

УДК 575.17:582

Н.А. Кутлунина, П.О. Мамаева, А.Ю. Беляев

N.A. Kutlunina, P.O. Mamaeva, A.Yu. Belyaev

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТЮЛЬПАНА ПОНИКАЮЩЕГО (*TULIPA PATENS*) В УРАЛЬСКОЙ ЧАСТИ АРЕАЛА ПО АЛЛОЗИМНЫМ МАРКЕРАМ

GENETIC VARIATION OF *TULIPA PATENS* BASED ON THE ALLOZYME MARKERS IN THE URAL PART OF THE AREA

С использованием метода аллозимного анализа было изучено семь природных популяций тюльпана поникающего. В шести ферментных системах выявлено 32 аллельных варианта изоэнзимов, контролируемых семью локусами. Число аллелей на локус варьирует от 2 до 7. Были вычислены частоты аллелей, 12 аллелей оказались редкими. Были также определены основные показатели полиморфизма. Доля полиморфных локусов (P) в разных популяциях находится в пределах от 71 до 86 %. Показатели наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности для совокупности всех популяций составили $H_0 = 0.21$ и $H_e = 0.41$. Среднее эффективное число аллелей (N_e) составило 1,907. Коэффициент инбридинга популяции относительно всего вида оказался довольно высоким ($F_{ST} = 0.273$), что указывает на значительную генетическую дифференциацию популяций *Tulipa patens*. Это иллюстрирует UPGMA дендрограмма, построенная на основе коэффициентов генетической дистанции Неи.

Тюльпан поникающий (*Tulipa patens* C. Agardh ex Schult. et Schult) относится к подроду *Eriostemon* Raamsd рода *Tulipa*, сем. Liliaceae. Этот вид распространен в степной зоне Сибири от Урала до Хакасии, в Северо-Восточном Казахстане, на Алтае, заходит в Северный Китай. Он относится к редким охраняемым растениям в ряде областей Российской Федерации и Казахстана. Сокращение численности происходит из-за хозяйственной деятельности человека, прежде всего, вследствие распашки степей и выпаса скота. На Южном Урале и в Зауралье *T. patens* находится на западном пределе своего ареала, произрастает в виде небольших изолированных популяций, контактирующих местами с другими близкородственными видами тюльпана (Князев и др., 2001; Куликов, 2005). В связи с этим изучение генетического разнообразия тюльпана поникающего в уральской части ареала является актуальным для познания механизмов и закономерностей микроэволюционного процесса в популяциях редких растений. В практическом плане такие исследования необходимы для разработки стратегии сохранения и восстановления генетического разнообразия вида.

Методом изоферментного анализа нами были изучены семь природных популяций тюльпана поникающего: две популяции из Оренбургской области (Халилово и Суундук), три популяции из Республики Башкортостан (Абзаново, Аркаим Сибайский и Старый Сибай), одна популяция из Челябинской области (Кизильское). Для сравнения исследовали популяцию из основной части ареала близ города Караганда (Казахстан). Электрофорез белков-ферментов, содержащихся в экстрактах из живых тканей растений, проводили в 6.4%-ном полиакриламидном геле в трис-ЭДТА-боратной системе (ТЕВ) по стандартному протоколу (Семериков, Беляев, 1996). Включенные в анализ популяционные выборки растений содержали от 12 до 22 особей, всего исследовано 124 особи.

В исследовании использованы шесть ферментных систем с хорошо интерпретируемыми результатами: ADH – алкогольдегидрогеназа (К.Ф.1.1.1.1), FDH – форматдегидрогеназа (К.Ф. 1.2.1.2.), GOT – глутаматоксалоцетаттрансминаза (К.Ф.2.6.1.1.), IDH – изоцитратдегидрогеназа (К.Ф.1.1.1.42), PGI – фосфоглюкоизомераза (К.Ф.5.3.1.9), SkDH – шикиматдегидрогеназа (К.Ф.1.1.1.25). В аллозимном анализе для PGI использованы данные по двум локусам, для остальных систем – по одному локусу. Определены следующие основные показатели генетического полиморфизма: H_e – ожидаемая гетерозиготность, H_0 – наблюдаемая гетерозиготность, P – процент полиморфных локусов. Популяционную структуру и степень генетической подразделенности популяций исследовали с помощью F-статистик Райта (Wright, 1951). Количественную оценку степени генетических различий между популяциями проводили по методу, предложенному М. Неи (Nei, 1978). Для вычисления показателей использована программа PopGen32. Кластеризацию по методу UPGMA проводили в программе NTSYS.

По 6 ферментным системам у тюльпана поникающего было обнаружено 32 аллельных варианта изоэнзимов, находящихся под контролем 7 локусов. Все исследованные локусы оказались полиморфными, ко-

личество аллелей на локус варьировало от 2 до 7. Только два аллеля имеют локус *Idh*, тремя аллелями представлен локус *Fdh*, в остальных ферментных системах (в пяти локусах) выявлено от 4 до 7 аллелей на локус. Наибольшее число аллелей выявлено в локусе *Skdh*. Из выявленных у *T. patens* 32 аллелей 12 являются редкими (37,5 %), то есть встречаются с частотой менее 5 % для вида в целом. Процент полиморфных локусов (P) в разных популяциях *T. patens* варьировал от 71 до 86 %, для вида в целом этот показатель составил 100 %. По каждой популяции уровень наблюдаемой гетерозиготности оказался ниже уровня ожидаемой гетерозиготности. В среднем показатели наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности для всех популяций составили $H_0 = 0.21$ и $H_e = 0.41$, то есть обнаружился дефицит гетерозигот. Это подтвердили и значения коэффициентов инбридинга Райта: коэффициент инбридинга особи относительно выборки (F_{IS}) был равен 0,276, а коэффициент инбридинга особи относительно всего вида в целом (F_{IT}) составил 0,474. Коэффициент инбридинга популяции относительно всего вида (F_{ST}) в среднем составил 0,273, то есть 27 % приходится на межпопуляционную изменчивость.

Возможно, что причиной значительных различий между показателями наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности *T. patens* является краевое положение уральских популяций относительно основной части ареала данного вида. Эти популяции могли подвергнуться действию дрейфа генов или эффекта основателя. Очевидно, что популяции тюльпана поникающего обладают очень высоким для редкого вида уровнем изменчивости. Известно, что для редких видов $H_e = 0.096$, а для долгоживущих многолетних травянистых растений $H_e = 0.082$.

С использованием коэффициентов генетической дистанции Неи была проведена количественная оценка степени близости между исследованными популяциями *T. patens*. Популяция «Караганда» на дендрограмме заняла обособленное положение (см. рисунок). Это связано, вероятно, с очень значительной географической обособленностью данной популяции и тем, что она относится к основной части ареала вида. В целом все популяции образуют две группы: в первую входит всего одна популяция «Караганда», а во вторую

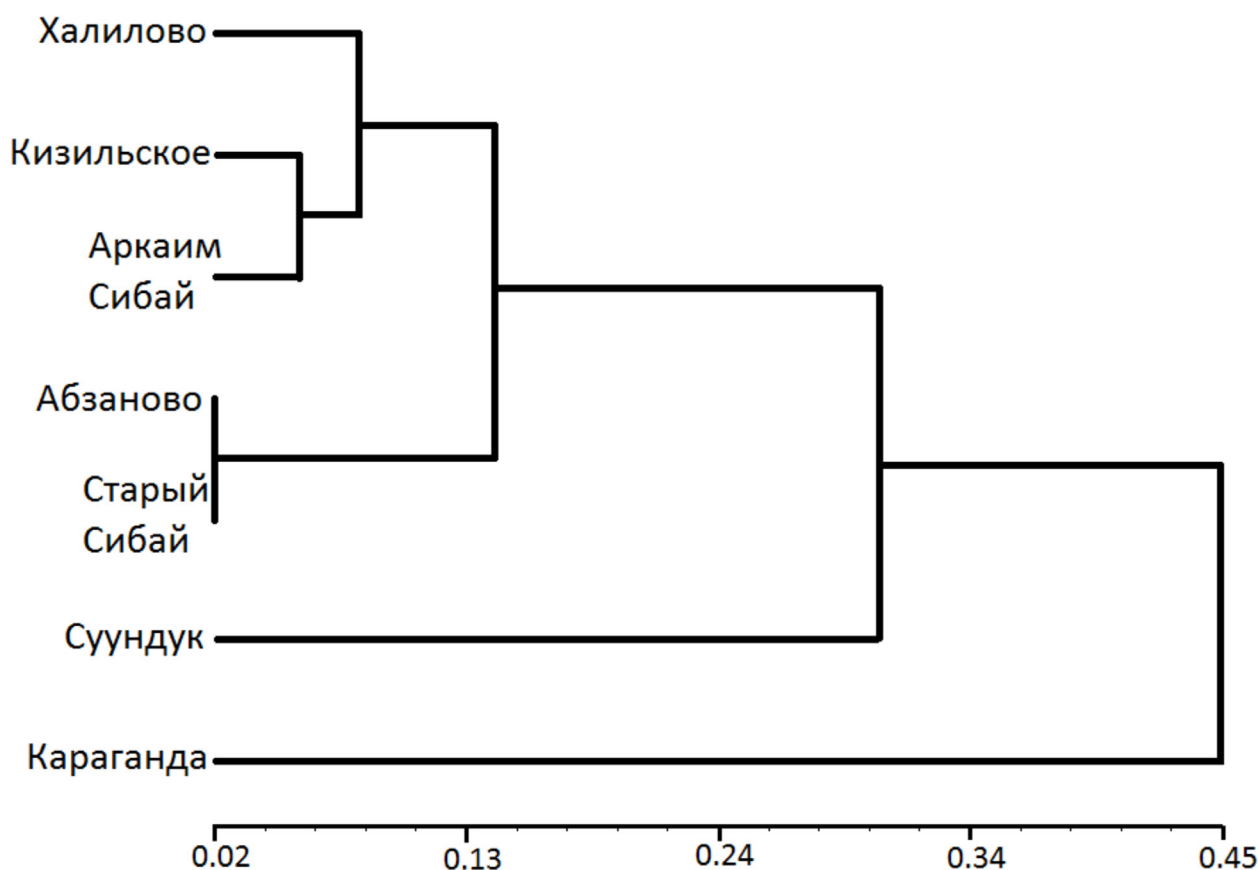


Рис. Дендрограмма, построенная методом UPGMA на основе генетической дистанции Неи, показывающая степень генетической дифференциации между популяциями *Tulipa patens*.

включена популяция «Суундук» и все остальные популяции. Наиболее генетически близкими являются популяции «Абзаново» и «Старый Сибай» ($D_n = 0.023$). Такой результат является довольно неожиданным из-за того, что эти популяции находятся по разные стороны горного хребта. Однако это можно объяснить тем, что данные популяции произрастают совместно с популяциями близкородственного вида *Tulipa biebersteiniana* Schult. et Schult. fil., что не исключает возможности межвидовой гибридизации. Об этом свидетельствует появление на электрофореграмме вида *T. patens* аллелей, характерных для *T. biebersteiniana*. Это явление сближает популяции «Абзаново» и «Старый Сибай», удаляя их от других популяций. О наличии генов *T. biebersteiniana* в геноме *T. patens* в уральских популяциях свидетельствуют данные AFLP-анализа, проведенного для комплекса близкородственных видов *Tulipa* (Кутлунина и др., 2013).

Генетически близкими между собой оказались популяции «Кизильское» и «Аркаим Сибай» ($D_n = 0.059$), к ним также очень близка популяция «Халилово». Эти три популяции объединились неслучайно, так как географически они достаточно близки.

На основе проведенного исследования можно заключить, что *T. patens* в уральской части ареала характеризуется высоким уровнем генетической изменчивости на фоне значительного отклонения от равновесия Харди-Вайнберга. В данной части ареала резко выражены различия между популяциями по составу и частотам аллелей аллозимных локусов. Это вероятно связано с особенностями современного расселения тюльпана понижающего в ареале, инсуляризацией популяций и процессами гибридизации (возможно и редкими) с близкородственными видами. Установленная гетерогенность популяций, наличие уникальных редких аллелей в каждой популяции и межпопуляционная генетическая дифференциация отражают своеобразие генетической структуры этого редкого вида.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 13-04-01458-а

ЛИТЕРАТУРА

Князев М.С., Куликов П.В., Филиппов Е.Г. Тюльпаны родства *Tulipa biebersteiniana* (Liliaceae) на Южном Урале // Бот. журн., 2001. – Т. 86, №3. – С. 109–119.

Куликов П.В. Конспект флоры Челябинской области (сосудистые растения). Екатеринбург – Миасс: «Геотур», 2005. – 537 с.

Кутлунина Н.А., Полежаева М.А., Пермякова М.В. Морфологический и генетический (AFLP) анализы видов тюльпанов родства *Tulipa biebersteiniana* (Liliaceae) // Генетика, 2013. – Т. 49, № 4. – С. 461–471.

Семериков В.Л., Беляев А.Ю. Аллозимный полиморфизм в природных популяциях и культурных сортах клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) // Генетика, 1995. – Т. 31, № 6. – С. 815–819.

Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics, 1978. – Vol. 83 – P. 583–590.

SUMMARY

Using the method of allozyme analysis seven natural populations of *Tulipa patens* C. Agardh ex Schult. et Schult were studied. Six enzymatic systems and 32 allelic variants were found, which controlled 7 loci. The number of alleles per locus ranged from 2 to 7. Allele frequencies were calculated, 12 of them were rare. Also main indicators of polymorphism were calculated. The percentage of polymorphic loci (P) ranged from 71 to 86 %. Indicators of observed and expected heterozygosity were $H_o = 0.21$ and $H_e = 0.41$. Average effective number of alleles (N_e) was 1.907. Inbreeding coefficient of the population with respect to the entire species (F_{ST}) was 0.273. Using the coefficient of Nei with the genetic distance, the UPGMA dendrogram was constructed. It shows the degree of genetic differentiation between the populations of *T. patens*.